Institut für Rechtsmedizin der Universität Marburg

ZUR IDENTIFIZIERUNG VON MENSTRUATIONS-, GEBURTS- UND LEICHENBLUTSPUREN SOWIE VON SPERMASPUREN DURCH ELEKTROPHORETISCHE BESTIMMUNG DES LAKTATDEHYDROGENASE-MUSTERS

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

RITA SCHMITT
aus Königshofen/Grabf.

Marburg 1979

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Institut für Rechtsmedizin der Universität Marburg

ZUR IDENTIFIZIERUNG VON MENSTRUATIONS-, GEBURTS- UND LEICHENBLUTSPUREN SOWIE VON SPERMASPUREN DURCH ELEKTROPHORETISCHE BESTIMMUNG DES LAKTATDEHYDROGENASE-MUSTERS

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

RITA SCHMITT

aus Königshofen/Grabf.

Marburg 1979

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg/Lahn
am: 2.3. 1979

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Dekan: Prof. Dr. med. F. Neurath
Referent: Prof. Dr. med. I. Oepen
Correferent: Prof. Dr. med. F. Schleyer

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	Einleitung	1
1.1.	Fragestellung	1
1.2.	Struktur, Eigenschaften und Funktion der Laktatdehydrogenase	1
1.3.	Polymorphismus der Laktatdehydrogenase	4
1.4.	Die Methoden von ASANO u. Mitarb., sowie von MOKASHI u. Mitarb.	5
2.	Eigene Untersuchungen und Ergebnisse	7
2.1.	Material und Methode	7
2.1.1.	Material	7
2.1.2.	Methode	8
2.1.2.1.	Vorbereiten der CAF-Trägerfolien	9
2.1.2.2.	Ausführung der Elektrophorese	10
2.1.2.3.	Färben der Folien	10
2.1.2.4.	Ausführung der Elektrophorese auf Temo-Folie	11
2.2.	Vorversuche	12
2.3.	Hauptversuche	14
2.3.1.	Normales Venenblut	14
2.3.2.	Geburtsblut	16
2.3.3.	Leichenblut	19
2.3.4.	Menstruationsblut	24
2.3.5.	Spermaproben	26
2.3.6.	Einfluß von Saccharose-Lösung	28
2.3.7.	Optimale Technik	31
3.	Diskussion	33
3.1.	Vergleich der eigenen Befunde mit den Ergebnissen von ASANO, OYA und HAYAKAWA	33
3.2.	Vergleich der eigenen Untersuchungen an Spermaspuren mit den Literaturangaben	37
4.	Zusammenfassung	39
5.	Literaturverzeichnis	41

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546011_0030

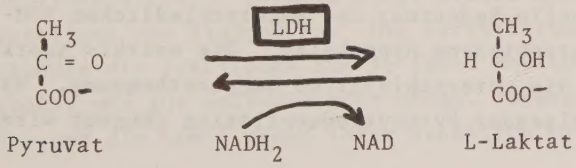
1. Einleitung

1.1. Fragestellung

In der rechtsmedizinischen Praxis ist häufig die Frage nach der Herkunft einer Blutspur zu beantworten. So kann z.B. bei Sexualdelikten, verheimlichter Kindstötung oder bei kriminellem Abort zu klären sein, ob es sich um Menstruations-, Plazenta-, Leichen- oder aber um normales Venenblut handelt.
Diese Frage kann nach ASANO u. Mitarb. mit Hilfe der elektrophoretischen Darstellung der Laktatdehydrogenase (LDH, E.C.1.1.1.27) beantwortet werden, die je nach Herkunft der Blutspur ein unterschiedliches Muster aufweist. Neben den Standard-Methoden zur Identifizierung von Blutspuren (den Verfahren des Blut- und Blutartnachweises sowie den Identifizierungsmethoden von Genitalblutspuren) (SCHLEYER und OEPEN) hat sich dieses Nachweisverfahren einen Platz in der Untersuchung von Blutspuren gesichert.
In der vorliegenden Arbeit soll die von ASANO u. Mitarb. beschriebene Methode überprüft und um den Nachweis von Spermaspuren (ZINKHAM u. Mitarb. 1964, MOKASHI u. Mitarb.) erweitert werden, der bei Sexualdelikten meistens zu führen ist.

1.2. Struktur, Eigenschaften und Funktion der Laktatdehydrogenase

Die LDH ist ein Enzym, das die letzte Stufe der anaeroben Glykolyse, die Umwandlung von Pyruvat in Laktat, reversibel katalysiert. Dabei wird Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD) als Coenzym benötigt.
Es läuft folgende Reaktion ab:



Die LDH ist ein Isoenzym, das aus 4 Untereinheiten besteht. Je nach Zusammensetzung des Moleküls finden wir:

LDH-1	HHHH	BBBB
LDH-2	MHHH	ABBB
LDH-3	MMHH	AABB
LDH-4	MMMH	AAAB
LDH-5	MMMM	AAAA

Die Symbole H (B) und M (A) resultieren aus dem Vorkommen der Typen in den einzelnen Geweben. So ist z.B. die LDH-1 überwiegend im Herzmuskel (H) zu finden, die LDH-5 überwiegend in der Skeletmuskulatur (M) und in der Leber.
Für die LDH-X, die nur in den Spermien und im postpuberalen Hodengewebe (ein Nachweis der LDH-X ist hierfür beweisend) nachweisbar ist, wurde die Steuerung durch einen dritten Genlocus C angenommen, da sie nicht von den Genloci A und B gesteuert wird (BLANCO u. Mitarb.).

Die Aminosäuren-Zusammensetzung der LDH differiert bei einzelnen Tierarten und zwischen den Isoenzymen derselben Spezies; so ist z.B. die langsamere Wanderungsgeschwindigkeit von LDH-5 gegenüber LDH-1 bedingt durch den niedrigeren Argiringehalt bei etwas höherem Gehalt an Asparaginsäure und Glutaminsäure (KOWALEWSKI). Die Zusammensetzung von LDH-2, LDH-3 und LDH-4 nimmt eine Mittelstellung ein zwischen LDH-1 und LDH-5.
Das Enzym LDH wurde schon frühzeitig mit verschiedenen Untereinheiten elektrophoretisch dargestellt (MARKERT und MØLLER 1959). Bereits 1961 konnten APELLA und MARKERT durch Sprengung der LDH aus Rinderherz beweisen, daß das LDH-Molekül ein Tetramer ist, das in 4 Monomere aufgespalten werden kann. Die Dissoziation kann u.a. auch mit Harnstoff erzielt werden.
Über die funktionelle Bedeutung der unterschiedlichen LDH-Isoenzyme gibt es verschiedene Hypothesen. Die weithin anerkannte gründet sich auf die unterschiedliche Substrathemmung. Während die LDH-1 mit steigender Pyruvatkonzentration gehemmt wird,

tritt die Hemmung der LDH-5 erst bei sehr hoher Substratkonzentration auf. Daraus schloß man, daß Gewebe mit einem Vorherrschen der LDH-1 eine hohe Pyruvatkonzentration erlauben, während Gewebe mit überwiegend anaerobem Stoffwechsel (Leber, Skelettmuskulatur) die rasche Umwandlung von Pyruvat zu Laktat begünstigen (KOWALEWSKI).

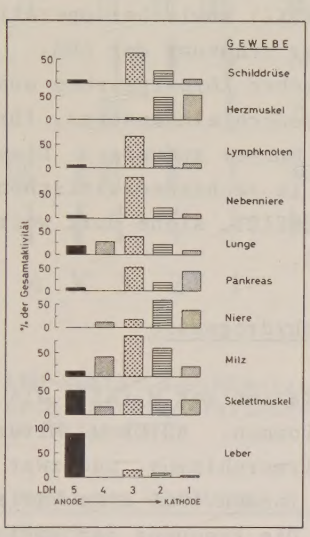


Abb. 1: Verteilung der LDH-Isoenzyme in verschiedenen Geweben (nach *Wróblewski* und *Gregory* 1961).

Die LDH ist in nahezu allen Organen des Körpers in zum Teil unterschiedlicher Konzentration verbreitet, so daß das Enzymprofil Hinweise auf die Herkunft geben kann (Abb. 1).
Die LDH des Blutes stammt überwiegend aus den Erythrozyten. Die Konzentration in den roten Blutzellen ist 150mal höher als im Serum (ISSELSTEIN). Deshalb prägt dieses Enzym entscheidend die Darstellung von Blutspuren. Die Erythrozyten-LDH umfaßt beim Gesunden die Fraktionen LDH-1, LDH-2 und LDH-3 in etwa gleichgroßer und gut nachweisbarer Menge. Dagegen stellen sich die LDH-4 und die LDH-5 wegen ihrer erheblich niedrigeren

Konzentration elektrophoretisch auf Cellulose-Acetat-Folie (CAF) nur schwach dar. Im Leichen-, Plazenta- und Menstruationsblut kommen neben LDH-1, LDH-2 und LDH-3 die Fraktionen LDH-4 und LDH-5 in zum Teil höherer Konzentration vor.
Bei einigen Krankheiten kommt es im Blutserum zu beachtlichen Veränderungen des LDH-Musters. So kann es z.B. bei Leber- und Gallenwegserkrankungen, Herz-Kreislauf-Krankheiten, Blutkrankheiten, Lungenerkrankungen und malignen Tumoren zu einer Erhöhung der LDH-Aktivität kommen (EISENBURG). Auch bei degenerativen Muskelerkrankungen (KOWALEWSKI) sowie bei operativen Eingriffen kommt es im Serum zu einer Erhöhung der LDH.
Die LDH ist nicht nur in menschlichen Körpergeweben ausgebildet, sondern auch bei Tieren, wo sie jedoch ein anderes, für die jeweilige Art charakteristisches Muster aufweist. Dieser Umstand kann zur Artunterscheidung in rechtsmedizinischen Spuren-Untersuchungen genutzt werden (SCHEIDT, siehe dort weitere Literatur, sowie OEPEN u. Mitarb.).

1.3. Polymorphismus der Laktatdehydrogenase

Varianten können sowohl durch Mutation der M (A) - als auch der H (B) - Untereinheiten zustande kommen. BOYER u. Mitarb. beschrieben 1963 erstmals einen Polymorphismus, und zwar eine B-Variante. DAVIDSON u. Mitarb. fanden 1965 eine Variante der A-Untereinheit in Erythrozyten. Die Frequenz der Varianten ist besonders in der weißen Bevölkerung zu gering, als daß die LDH für Abstammungsuntersuchungen oder zur Identifizierung einer Person genutzt werden könnte. Die Varianten sind im übrigen nicht nur in Erythrozyten, sondern auch im Sperma (A-Variante, DAVIDSON u. Mitarb.) und im Speichel (LDH-Defizienz, KITAMURA u. Mitarb.) nachzuweisen. Der Polymorphismus ist ausführlich besprochen bei SCHEIDT (vgl. Abb. 2).

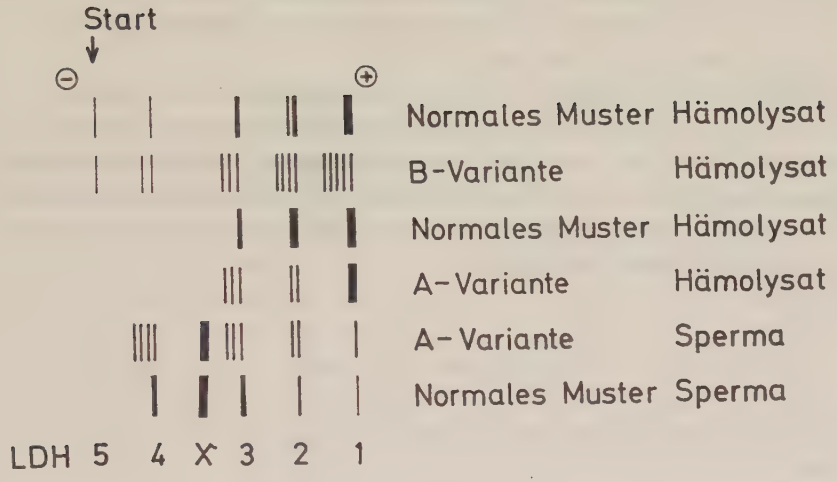


Abb. 2: LDH-Muster aus Hämolysat und Sperma, schematisch nach BOYER (A-Variante) und DAVIDSON u. Mitarb. (B-Variante).

1.4. Die Methoden von ASANO u. Mitarb., sowie von MOKASHI u. Mitarb.

Die japanische Arbeitsgruppe beobachtete, daß die Fraktionen LDH-4 und LDH-5 im Menstruations-, Leichen- und Geburtsblut stärker ausgeprägt sind als im normalen Venenblut. Die Autoren glaubten gefunden zu haben, daß die Fraktionen LDH-4 und LDH-5 mit zunehmendem Spurenalter im Menstruationsblut wesentlich stärker abnehmen als im Leichen- und Geburtsblut. Sie untersuchten 7 Spuren von Menstrualblut 10 und 25 Tage nach der Erstuntersuchung. Dabei stellten sie fest, daß nach 10 Tagen weitgehend ein Muster wie bei der Erstuntersuchung zu finden ist, während nach 25 Tagen eine starke Abnahme bzw. ein Verschwinden der LDH-4 und LDH-5 zu verzeichnen war.

Im einzelnen gingen ASANO u. Mitarb. wie folgt vor:
Spuren von Menstruations-, Geburts-, Leichen- und normalem Venenblut wurden aus dem Trägermaterial (Leinen, Watte) eluiert; der Ansatz wurde elektrophoretisch aufgetrennt und mit der 1962 von MARKERT und URSPRUNG beschriebenen Substratlösung gefärbt.
Technik von MOKASHI u. Mitarb.:
Die indische Arbeitsgruppe mischte ein Äquivalent von 0,05 ml Blut oder Sperma (gewonnen durch Eluieren der Spuren mit Aqua bidest.) mit 0,45 ml 40%iger Saccharoselösung. MOKASHI u.Mitarb. trennten den Ansatz mit Hilfe der Polyacrylamidgel-Elektrophorese auf und färbten ihn ebenfalls mit der Substratlösung nach MARKERT und URSPRUNG (1962).

2. Eigene Untersuchungen und Ergebnisse

2.1. Material und Methode

2.1.1. Material

Es wurden in 32 Fällen Plazenta- und Venenblut der Mutter sowie in 5 dieser 32 Fälle außerdem Geburtsblut (= Mischblut aus Plazentablut und Normalblut der Mutter aus der Episiotomiewunde) untersucht. Die Proben wurden freundlicherweise von der Universitäts-Frauenklinik Marburg zur Verfügung gestellt[+]. Im Pathologischen Institut und im Rechtsmedizinischen Institut der Universität Marburg wurden in 30 Fällen Leichenblutproben entnommen. Aus dem Rechtsmedizinischen Institut der Universität Hamburg stammen 11 Proben von Leichenblut[++]. In 32 Fällen wurde Venenblut gesunder Spender untersucht. Menstruationsblut wurde in 30 Fällen analysiert. Aus der Fertilitätssprechstunde der Marburger Universitäts-Hautklinik konnten wir 51 Spermaproben erhalten.

Aufbereitung des Materials

Alle Blutproben sowie die Spermaproben wurden auf saubere Leinen- oder Baumwoll-Läppchen aufgetropft und bei Zimmertemperatur getrocknet und gelagert. 1 ml Zitratblut ergab einen Flecken von ca. 10 cm Durchmesser, bei Normalblut hatte die Fleckengröße 7 cm Durchmesser/ml Blut, bei den Spermaspuren ergab 1 ml einen Flecken von ca. 6 cm Durchmesser. Für das Menstruationsblut war Watte das Trägermaterial.

[+] Den Schwestern im Kreißsaal der Marburger Universitäts-Frauenklinik sei an dieser Stelle für die Bereitstellung der Proben gedankt.

[++] Für die Überlassung dieser Proben danke ich Herrn Prof. Dr. med. B. Brinkmann.

Bei den Blutspuren wurden jeweils 2 cm^2 in kleine Teilchen (etwa 2 x 2 mm) zerschnitten und in einem Reagenzglas mit 0,5 ml Aqua bidest. angesetzt. Bei den Spermaspuren wurde die doppelte Stoffmenge (ca. 4 cm^2) in der gleichen Weise aufbereitet. Bei den Spuren von Menstruationsblut wurden 0,33 cm^3 der blutdurchtränkten Watte zerschnitten und ebenfalls mit 0,5 ml Aqua bidest. eluiert.
Nach einer Lösungszeit von 12 bis 24 Stunden wurden mit einer "Marburg-Pipette" 0,05 bis 0,1 ml des Extraktes (im folgenden Text als "Eluat" bezeichnet) auf Trägerfolien aufgetragen.

2.1.2. Methode

Die Isoenzyme der LDH wurden mit Hilfe der Elektrophorese aufgetrennt. Als Trägermaterial wurden Cellulose-Acetat-Folien (CAF) der Fa. Biotest und Temo-Folien der Fa. Molter benutzt. Die Verwendung der beiden unterschiedlichen Trägerfolien wird im Text getrennt besprochen. Von ASANO u. Mitarb. wurden Cellogel-Folien der Fa. Chemetron Ldt., Mailand, als Trägermaterial verwendet. Abgesehen von diesem Unterschied wurde im übrigen in der vorliegenden Arbeit die Auftrennung nach der von ASANO u. Mitarb. beschriebenen Methode vorgenommen. Auf die Vereinfachung einzelner Schritte wird in der Diskussion eingegangen.
Als Brückenpuffer wurde 0,05 ^{M} Veronalpuffer ph 8,6 benutzt.
Herstellung des Puffers:
10,31 g 5.5-Diäthylbarbitursäure-Natriumsalz (Veronal) in ca. 300-500 ml Aqua bidest. lösen; mit ca.
10 ml 1 N HCL auf ph 8,6 einstellen; mit Aqua bidest. auf 1000 ml auffüllen.

2.1.2.1. Vorbereiten der CAF-Trägerfolien:

Die CAF wird in ein Gefäß mit Veronalpuffer (0,05 M, ph 8,6) eingelegt, so daß keine Luftblasen miteingeschlossen werden. Das ist wichtig, da sich sonst das Eluat an diesen Stellen bei der späteren Elektrophorese nicht gut auftrennt. Die Folie bleibt 10 min lang in der Pufferlösung und wird dann vorsichtig herausgenommen. Sodann wird überschüssiger Puffer durch kurzes Trocknen zwischen zwei Filterpapieren entfernt. Die so vorbereiteten Folien werden in das Elektrophoresegerät (Fa. Biotest) eingebracht, dessen seitliche Kammern so viel Brückenpuffer enthalten (250 ml), daß die Enden der Folie gut eintauchen. Die mittlere Kammer bleibt leer. Mit der "Marburg-Pipette" werden auf eine Platte mit 8 nebeneinander angeordneten Vertiefungen je 0,05 - 0,1 ml Eluat aufgebracht und von dieser Platte mit einem Kämmchen auf die vorbereiteten Folien übertragen.

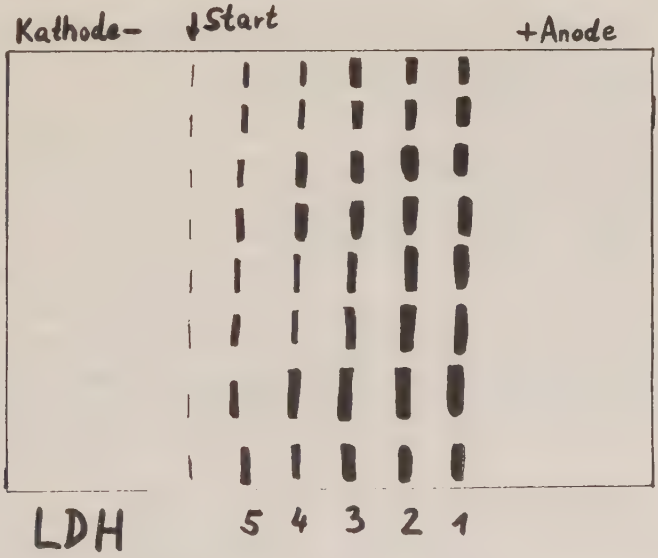


Abb. 3: Schematische Darstellung einer Folie; mit Auftragestellen (Start) und Entwicklung der aufgetrennten LDH-Isoenzyme.

2.1.2.2. Ausführung der Elektrophorese

Am Elektrophoresegerät wird eine Stromstärke von 15 mA eingestellt (1 mA/cm Folie); die Laufzeit beträgt 60 min bei einer Spannung von ca. 200 V. Leichte Spannungsschwankungen sind zugunsten einer konstanten Stromstärke zu tolerieren.

2.1.2.3. Färben der Folien

Die von URSPRUNG und MARKERT 1962 beschriebene Färbelösung setzt sich zusammen aus:
4 ml einer 50%igen Natrium-Laktat-Lösung
5 ml PMS-Lösung (Phenazin-Metho-Sulfat)
40 mg NAD (Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid)
30 mg NBT (Nitro-Blau-Tetrazolium)

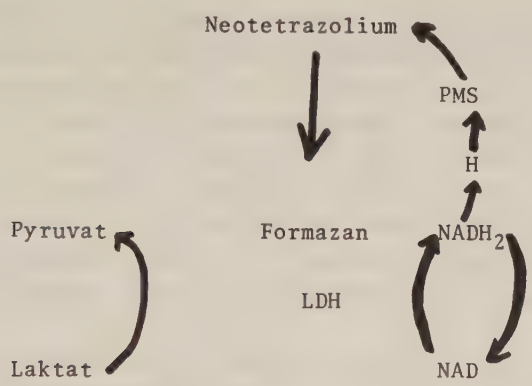
Diese Reagentien werden in 56 ml Tris-Puffer (0,05 M, ph 7,4) gelöst.

Herstellung des 0,05 M Tris-HCL-Puffers

3,028 g Tris in ca.
150 ml Aqua bidest. lösen; mit ca.
21 ml 1 N HCL auf ph 7,4 titrieren; auf
500 ml mit Aqua bidest. auffüllen.

Die Folien werden nach Abschluß der Elektrophorese in ein Gefäß mit Färbelösung gelegt und 30 min bei 37° C inkubiert. Nach Herausnahme aus dem Färbebad werden sie kurz mit Wasser abgespült. Die aufgetrennten Isoenzyme sind nun an typischer Stelle sichtbar.

Bei der Färbung läuft folgende Reaktion ab:



Schematische Darstellung der histochemischen Lokalisation nach MARKERT und URSPRUNG. Der Formazan-Niederschlag zeigt die Position der einzelnen Isoenzyme an.

2.1.2.4. Ausführung der Elektrophorese auf Temo-Folie

Bei Beginn der Elektrophorese wird außer der Trägerfolie eine weitere, die Entwicklerfolie, in Aktivatorpuffer (von der Fa. Molter gebrauchsfertig geliefert) eingelegt. Nach 5 min wird die Folie herausgenommen und auf der Cellulose-Acetat-Seite mit 1 ml der fertigen Färbelösung überschichtet. Nach Ablauf der Elektrophorese, die 15 min bei einer Spannung von 350 V läuft, nimmt man die Temo-Folie aus der Kammer, trocknet sie zwischen zwei Filterpapieren und legt sie mit der Cellulose-Acetat-Seite auf die mit Entwicklerreagenz beladene Folie. Es ist streng darauf zu achten, daß keine Luftblasen eingeschlossen werden. Das "Sandwich" wird dann 30 min lang bei 37° C inkubiert.
Der Vorteil der Elektrophorese auf Temo-Folien liegt darin, daß sich auch geringe Spurenkonzentrationen nachweisen lassen, die sich bei dem Nachweis auf CAF entziehen.

2.2. Vorversuche

In den Vorversuchen wurde Menstruationsblut untersucht. Außerdem wurde normales Venenblut auf Filterpapier aufgetropft und bei Raumtemperatur getrocknet, um ähnliche Bedingungen zu erhalten wie bei gerichtlichen Spuren-Untersuchungen. Bei der ersten Elektrophorese zeigte sich, daß die Konzentration der Eluate zu hoch war, so daß die einzelnen Isoenzyme sich nicht deutlich auftrennten. **Daher wurden** die Eluate nun mit 10 oder 15 Tropfen Aqua bidest. verdünnt. Die Auftrennung war bei einer Verdünnung mit 10 Tropfen Aqua bidest. am deutlichsten sichtbar.
Die Vorversuche mit Menstruationsblut ergaben ebenfalls, daß das zuerst hergestellte Eluat zu hoch konzentriert war. Die Darstellung nach der Verdünnung ist in Abb. 4 wiedergegeben.

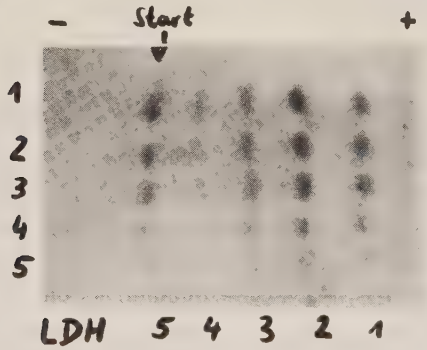


Abb. 4: LDH-Muster aus Menstruationsblut; die drei oberen Spuren wurden mit 10 Tr. Aqua bidest. verdünnt, die beiden unteren mit 15 Tropfen.

Für die Hauptversuche erwies sich jedoch die Konzentration von 0,5 ml Aqua bidest. auf 2 cm^2 Stoff bei den Blutspuren und auf 4 cm^2 bei den Spermaspuren als geeignet.

Der Unterschied gegenüber der stärkeren Konzentration des Eluats aus der gleichen Fläche des Filterpapiers liegt wahrscheinlich an der erheblich größeren Saugfähigkeit des Filterpapiers gegenüber der in den Hauptversuchen benutzten Leinen- und Baumwollstoffe.

2.3. Hauptversuche

2.3.1. Normales Venenblut

Um Bezugspunkte für die verschiedenen LDH-Muster in unterschiedlichen Blutspuren zu haben, wurde in 32 Fällen Venenblut gesunder Spender untersucht. Wie oben bereits erwähnt, setzt sich das LDH-Muster im Normalblut aus den Fraktionen LDH-1, LDH-2 und LDH-3 zusammen. Diese drei Isoenzyme liegen in etwa gleichgroßen Anteilen vor. Die Fraktionen LDH-4 und LDH-5 sind mit CAF nur sehr schwach nachweisbar (Abb. 5).

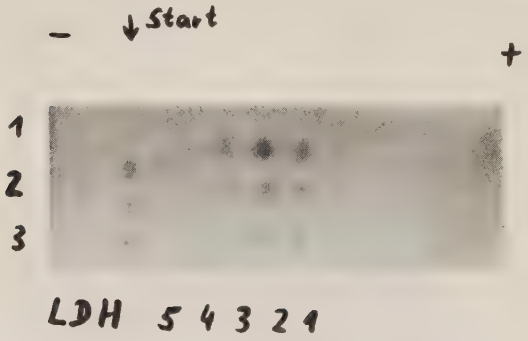


Abb. 5: Pherogramm mit LDH-Muster aus normalem Venenblut; die Flecken in Höhe des Pfeiles zeigen den Auftrageort der Eluate an.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Verhalten der LDH-Isoenzyme im Verlauf von 3-4 Wochen überprüft. Es zeigte sich, wie erwartet, eine Abnahme der gesamten Enzymkonzentration; 15 Tage nach der Erstuntersuchung waren in allen 32 untersuchten Spuren alle drei Isoenzyme nachweisbar. Am 20. Tag war in 5 der 32 Fälle die LDH-3 nur noch schwach sichtbar, LDH-1 und LDH-2 waren noch gut erhalten. Bei einem Spurenalter von 26 Tagen fehlte in 5 Fällen die LDH-3, in weiteren 2 Fällen LDH-3 und LDH-2 (Tabelle 1).

Spurenalter 15 Tage

n	LDH-3	LDH-2	LDH-1
32	vorhanden	vorhanden	vorhanden

Spurenalter 20 Tage

n	LDH-3	LDH-2	LDH-1
27	vorhanden	vorhanden	vorhanden
5	schwach sichtbar	vorhanden	vorhanden
32			

Spurenalter 26 Tage

n	LDH-3	LDH-2	LDH-1
25	vorhanden	vorhanden	vorhanden
5	fehlt	vorhanden	vorhanden
2	fehlt	fehlt	vorhanden
32			

Tabelle 1: Alterungsvorgänge an Normalblutspuren (n = 32) im Verlauf einer Lagerung von 26 Tagen bei Zimmertemperatur.

2.3.2. Geburtsblut

In der Arbeit von ASANO u. Mitarb. wird von Geburtsblut gesprochen, ohne daß definiert ist, ob es sich um Plazentablut oder um Mischblut aus Plazenta- und normalem Venenblut aus dem Uterus handelt.
In der vorliegenden Studie mit 32 Fällen Plazenta- und Venenblut der Mutter konnte in 5 Fällen auch noch Geburtsblut aus der Vagina (im weiteren Text "Vaginalblut") untersucht werden. Aus diesen Untersuchungen ging hervor, daß ASANO u. Mitarb. Plazentablut untersucht haben, da das Muster des bei der japanischen Arbeitsgruppe "Geburtsblut" genannten Blutes dem Muster des Plazentablutes mit intensiven LDH-4- und LDH-5-Anteilen entspricht.
Die Erstuntersuchung fand innerhalb der ersten 3 Tage nach der Materialentnahme statt. Die Wiederholungsuntersuchungen erstreckten sich über einen Zeitraum von durchschnittlich 25 Tagen. Es ergaben sich folgende Befunde:
Das Muster des mütterlichen Venenblutes entsprach erwartungsgemäß dem Muster des Normalblutes. Das Plazentablut zeigte ein Muster, das dem des Menstruationsblutes sehr ähnlich ist; das Vaginalblut nahm eine Mittelstellung zwischen dem Plazentablut und dem Venenblut ein (Abb. 6).
Bei einem Spurenalter von 11 Tagen war in 27 von 32 Fällen das gleiche Muster zu sehen wie bei der Erstuntersuchung. Die übrigen 5 Fälle zeigten in zwei Fällen die Fraktionen LDH-1, LDH-2, LDH-3 und LDH-5. Es fehlte also LDH-4, während dreimal bereits die Isoenzyme LDH-4 und LDH-5 fehlten; d.h. schon zu diesem Zeitpunkt war hier ein Muster entsprechend dem Normalblut zu sehen.
Zwischen dem 12. und 21. Tag nach der Materialentnahme waren in allen 32 Fällen die LDH-4 und LDH-5 nicht mehr nachweisbar, in drei Fällen war auch die Fraktion LDH-3 nicht mehr zu sehen. Die Spuren sind nach einem Zeitraum von 21 Tagen nicht mehr von normalem Venenblut zu unterscheiden (Tabelle 2).

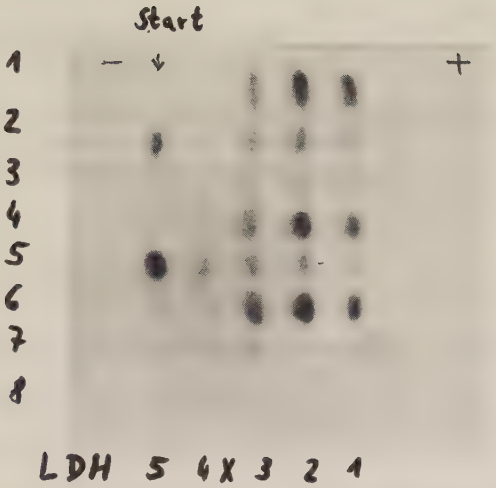


Abb. 6: LDH-Muster aus "Geburtsblut";
Nr. 1 u. 4: Venenblut;
Nr. 2 u. 5: Plazentablut;
Nr. 3 u. 6: Vaginalblut;
Nr. 7 u. 8: Spermaproben.

Spurenalter 1 - 3 Tage

n	LDH-3	LDH-4	LDH-5
32	vorhanden	vorhanden	vorhanden

Spurenalter bis 11 Tage

n	LDH-3	LDH-4	LDH-5
27	vorhanden	vorhanden	vorhanden
2	vorhanden	fehlt	vorhanden
3	fehlt	fehlt	fehlt
32			

Spurenalter bis 21 Tage

n	LDH-3	LDH-4	LDH-5
29	vorhanden	fehlt	fehlt
3	fehlt	fehlt	fehlt
32			

Tabelle 2: Alterungsvorgänge von Plazentablutspuren (n = 32) im Verlauf einer Lagerung von 21 Tagen bei Zimmertemperatur.

2.3.3. Leichenblut

Es wurden 41 Leichenblutproben untersucht. In 30 Fällen wurden Cellulose-Acetat-Folien der Fa. Biotest benutzt, in 11 Fällen Temo-Folien der Fa. Molter. Im folgenden Text werden die beiden Gruppen getrennt besprochen.

Untersuchung von Leichenblutspuren auf CAF (n = 30)

In 2 von 30 Fällen war von Anfang an nur die LDH-1, LDH-2 und LDH-3 nachweisbar, das ist ein Muster wie bei normalem Venenblut. In 3 der untersuchten 30 Fälle waren anfangs die Banden LDH-1, LDH-2, LDH-3 und LDH-5 zu sehen, es fehlte also die Fraktion LDH-4. In 10 Fällen war innerhalb von 9 Tagen nach der Erstuntersuchung die LDH-4 verschwunden, in 5 dieser 10 Fälle auch die LDH-5. 15 Tage nach der Erstuntersuchung war in 4 Fällen noch das Anfangsmuster zu sehen, das alle 5 Fraktionen aufweist. Bei 2 dieser 4 Fälle war uns die Grundkrankheit nicht bekannt, in einem Fall lag akutes Rechtsherzversagen mit Stauung im großen Kreislauf und daraus resultierender Leberschädigung vor, im zweiten Fall eine myeloische Leukämie. In beiden Fällen handelt es sich um Krankheitsbilder, bei denen zu Lebzeiten die Fraktionen LDH-4 und LDH-5 im Blutserum stark erhöht sind (KÜSTNER u. Mitarb., EISENBURG).
Die übrigen 26 der 30 untersuchten Spuren zeigten zu diesem Zeitpunkt (Spurenalter bis 15 Tage) ein Muster wie normales Venenblut (Tabelle 3). Es ist demnach durchaus nicht zutreffend, daß Leichenblut in jedem Fall ein typisches 5-Banden-Muster zeigt. Das gilt nach den vorliegenden Untersuchungen vor allem für etwa 14 Tage alte Spuren, kommt aber auch bei frischen Spuren vor.

Spurenalter 1 - 3 Tage

n	LDH-4	LDH-5
25	vorhanden	vorhanden
2	fehlt	fehlt
3	fehlt	vorhanden
30		

Spurenalter bis 9 Tage

n	LDH-4	LDH-5
20	vorhanden	vorhanden
5	fehlt	fehlt
5	fehlt	vorhanden
30		

Spurenalter bis 15 Tage

n	LDH-4	LDH-5
4	vorhanden	vorhanden
26	fehlt	fehlt
30		

Tabelle 3: Alterungsvorgänge an Leichenblutspuren (n = 30) im Verlauf einer Lagerung bis zu 15 Tagen bei Zimmertemperatur.

Bei der Analyse der Leichenblutspuren wurde den in der Literatur beschriebenen pathologischen Veränderungen nachgegangen, die ein Leichenblutmuster vortäuschen könnten.
Da bei Hepatitis-Patienten ein 5-Banden-Muster der LDH im Serum beschrieben wurde, untersuchten wir Blutspuren von 5 Hepatitispatienten. Es stellte sich jedoch nur das 3-Banden-Muster des Venenblutes dar.

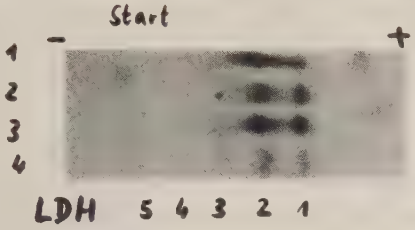
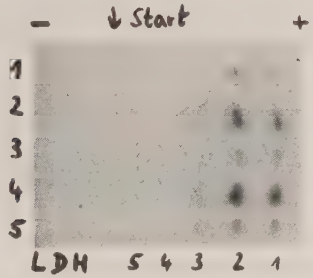


Abb. 7: LDH-Muster aus Blutspuren von Hepatitis-Patienten

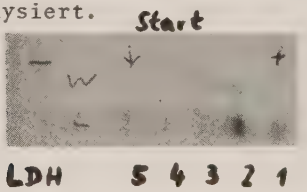
Da ferner bei einigen Verstorbenen, deren Blutspuren untersucht worden waren, kurz vor dem Tode eine Operation vorgenommen worden war, sollte festgestellt werden, welchen Einfluß dieser Eingriff auf das LDH-Muster hat. Es wurden deshalb 5 Spuren aus Blutproben von frischoperierten Patienten untersucht, um festzustellen, ob auch bei lebenden Patienten das LDH-Muster im Sinne des für Leichenblut typischen Musters verändert sein kann.



Spur 1: Appendektomie
Spur 2: Hemikolektomie
Spur 3: Vagotomie
Spur 4: Cholezystektomie
Spur 5: Op. wegen Dickdarm-Perforation

Abb. 8: LDH-Muster aus unterschiedlich alten Blutspuren nach Operationen (1 bis 4 Tage nach dem Eingriff angelegte Blutspuren). Der vergleichsweise größte Eingriff lag bei dem Patienten vor, dessen Blutprobe in Position 2 analysiert ist (Hemikolektomie).

Es stellte sich heraus, daß die künstlichen Spuren aus Blutproben nach operativen Eingriffen das Muster von Leichenblutspuren nicht aufweisen.
Weil in 2 von 30 auf CAF untersuchten Leichenblutspuren von Anfang an nur ein 3-Banden-Muster zu sehen war, lag die Vermutung nahe, einen Zeitraum ermitteln zu können, in dem ein Umschlag vom "typischen" Normalblutmuster in das "typische" Leichenblutmuster stattfindet.
Für den Fall, daß diese Entwicklung eine bestimmte, wenig variierende Zeitspanne erfordert, hätte eine LDH-Bestimmung am Leichenblut Schlüsse auf den Zeitpunkt des Todes erlaubt. Das wäre in solchen Fällen von besonderem Interesse, in denen zu klären ist, ob ein aufgefundener Toter, der z.B. Schußverletzungen aufweist, zum Zeitpunkt der Verletzung noch gelebt hat, oder aber bereits verstorben war. In einem der 30 untersuchten Fälle wurde auch eine echte Spur aus der Kleidung des erschossenen Toten sowie eine künstliche Leichenblutspur analysiert.



Spur aus der Wäsche

Leichenblutspur

Abb. 9: LDH-Muster aus einer Leichenblutspur und aus einer Blutspur, die aus der Wäsche derselben Person stammt.

Untersuchung von Leichenblutspuren auf Temo-Folien (n = 11)

Um die Frage nach einem zeitlich eingrenzbaren Umschlagspunkt des LDH-Musters vom "normalen" in das Leichenblut-Muster aufzugreifen, wurden 11 Spuren aus dem Rechtsmedizinischen Institut der Universität Hamburg untersucht von Blutproben, die im Zeitraum von 30 min bis 9 h nach dem Todeseintritt entnommen worden waren. Bis zum Postversand nach Marburg wurden diese Spuren tiefgefroren gelagert. Wir erhielten die Spuren mit einem Alter von 2-10 Tagen. Bei diesen Proben war nur in einem Fall (Spurenalter 5 h 15 min p. m.) das typische Leichenblutmuster mit 5 Isoenzymfraktionen sichtbar. Demnach kann aus

dem LDH-Pherogramm einer an der Leiche gesicherten Blutspur kein Hinweis auf die zurückliegende Zeitspanne bis zum Eintritt des Todes gewonnen werden.

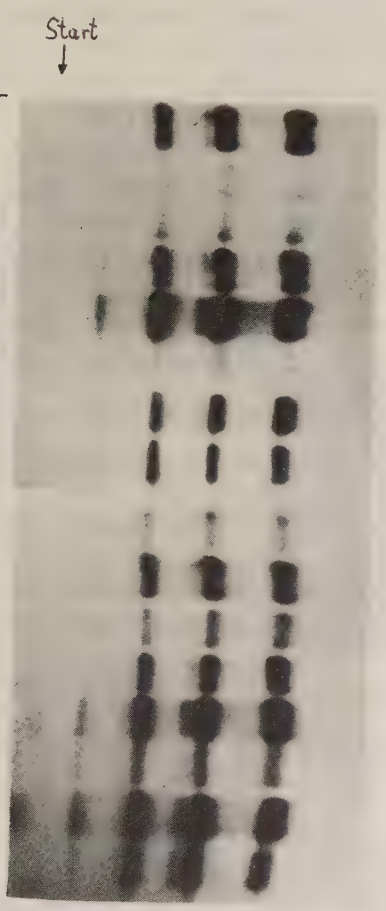


Abb. 10: Analyse von Leichenblutspuren auf Temo-Folie mit Angabe der Zeit zwischen Todeseintritt und Blutentnahme.

2.3.4. Menstruationsblut

Bei der Erstuntersuchung wurden in allen 30 Fällen die 5 Isoenzyme der LDH nachgewiesen. Ab dem 13. Tag nach der Erstuntersuchung fehlten einzelne LDH-Fraktionen, und zwar 8mal die Bande LDH-4, in weiteren 4 Fällen neben der LDH-4 auch die LDH-5. In einer untersuchten Spur fehlte LDH-5, LDH-4 und LDH-3.
Bei einem Spurenalter von 18 Tagen war bei 8 Proben noch das komplette 5-Bandenmuster nachweisbar, die übrigen 22 Spuren imponierten wie normales Venenblut.

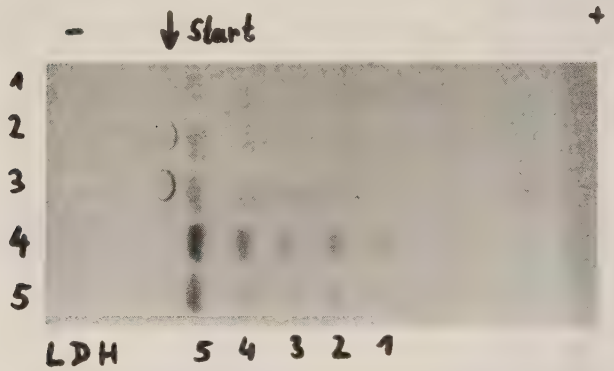


Abb. 11: LDH-Muster in Menstruationsblutspuren, Spurenalter 7-9 Tage.

Die teilweise relativ schwache Darstellung der Banden ist bedingt durch die Entnahme aus weniger intensiv durchtränkten Stellen des Watteträgers (Tampon). Es ist zu sehen, daß der Anteil der LDH-4 und LDH-5 im Menstruationsblut höher ist als der von LDH-1, LDH-2 und LDH-3.

Spurenalter 1-3 Tage

n	LDH-3	LDH-4	LDH-5
30	vorhanden	vorhanden	vorhanden

Spurenalter bis 13 Tage

n	LDH-3	LDH-4	LDH-5
17	vorhanden	vorhanden	vorhanden
8	vorhanden	fehlt	vorhanden
4	vorhanden	fehlt	fehlt
1	fehlt	fehlt	fehlt
30			

Spurenalter bis 18 Tage

n	LDH-3	LDH-4	LDH-5
8	vorhanden	vorhanden	vorhanden
21	vorhanden	fehlt	fehlt
1	fehlt	fehlt	fehlt
30			

Tabelle 4: Alterungsveränderungen von Menstruationsblutspuren (n = 30) bei einer Lagerung bis zu 18 Tagen bei Zimmertemperatur.

2.3.5. Spermaproben

Es wurden 51 Spermaproben untersucht, die aus der Fertilitätssprechstunde der Marburger Universitäts-Hautklinik stammten. In 15 Fällen handelte es sich um Normospermie, in 32 Fällen um Oligospermie und in 4 Fällen lautete die Diagnose Azoospermie.

Azoospermie:
In künstlichen Spuren dieser Proben war in drei Fällen erwartungsgemäß zu keinem Zeitpunkt die spermaspezifische Bande LDH-X zu sehen. In einem der 4 Fälle war bei einer Untersuchung die Fraktion LDH-X nachweisbar. Diese Spur ist demnach - entgegen der klinischen Diagnose - nicht frei von Spermien gewesen.

Oligospermie:
In den 32 Spermaspuren mit Oligospermie ließ sich 8mal die Bande X nicht nachweisen, in den übrigen 24 Spuren zeigte sich die sperma- und testesspezifische LDH-X.

Normospermie:
Die 15 untersuchten Fälle zeigten alle die Fraktion LDH-X.
Es waren folgende Enzymmuster zu sehen:

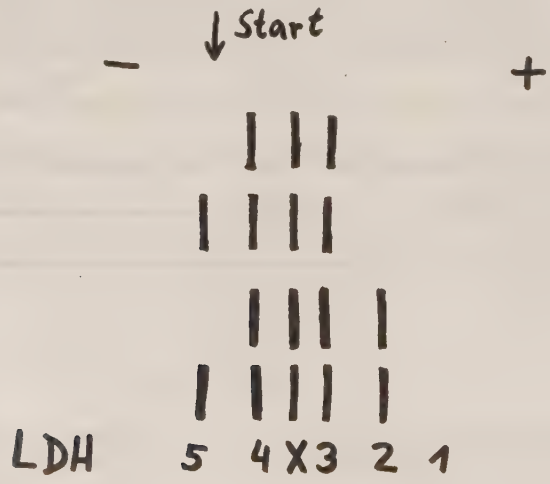


Abb. 12: Unterschiedliche Darstellung der LDH-Fraktionen bei Spermaspuren.

Diese unterschiedliche Enzymverteilung war auch bei den Spuren mit Oligospermie anzutreffen.

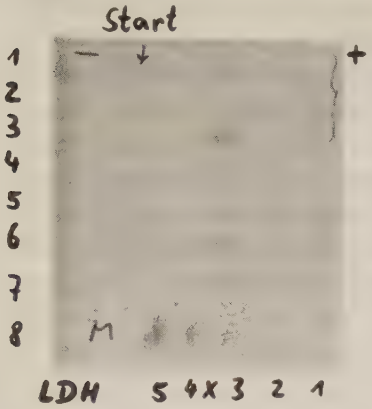


Abb. 13: LDH-Muster aus Spermaspuren, 14-18 Tage alt; besonders bei Spur 3 und 6 ist die Bande LDH-X deutlich sichtbar. Spur 8 zeigt eine 7 Tage alte Spur von Menstrualblut.

Es sei noch auf Abb. 6 verwiesen, auf der in den Positionen 7 und 8 Spermaproben analysiert sind. Bei Probe 8 ist eine sehr deutliche LDH-X-Bande zu erkennen.

Von 40 Spermaspuren, die eine LDH-X-Bande aufweisen, war der Nachweis mit Hilfe der CAF-Elektrophorese nur einmal bis zu einer Lagerung von 28 Tagen zu führen. Die Nachweisdauer der übrigen Spermaspuren ist in Tab. 5 aufgeführt.

Nachweisdauer (in Tagen)	Anzahl der Fälle
5	14
10	8
15	6
20	1
25	10
28	1
	40

Tabelle 5: Nachweisdauer der spermaspezifischen Fraktion LDH-X auf CAF.

2.3.6. Einfluß von Saccharose-Lösung

MOKASHI und MADIWALE haben beschrieben, daß der Zusatz 40%iger Saccharoselösung eine Nachweisdauer der LDH-X von mindestens 4 Wochen gewährleiste. Diese Modifikation wurde am Ende unserer Versuchsreihe erprobt. Es wurde folgendes festgestellt:

Durch Zugabe von 0,5 ml Saccharoselösung zu 0,5 ml Eluat sowie durch Eluieren der Spermaspuren mit dieser Lösung ließ sich keine Verbesserung der Darstellung erzielen. Es kam zwar durch den Saccharosezusatz zu einer intensiveren Anfärbung, die jedoch zum Teil mit einer Verbreiterung und einer dadurch bedingten schlechteren Abgrenzbarkeit der Banden einherging. Die Abb. 14 und 15 zeigen den Einfluß des Saccharosezusatzes.

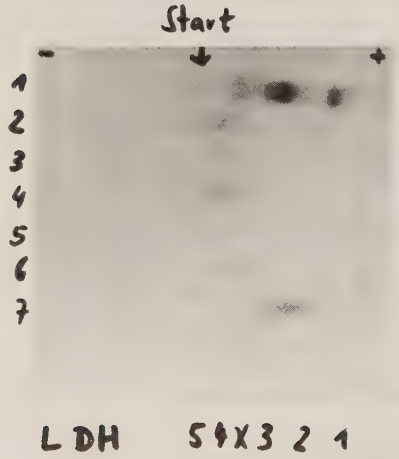


Abb. 14: LDH-Muster von Spermaspuren ohne Saccharosezusatz, Darstellung auf CAF (Erläuterung im Text).

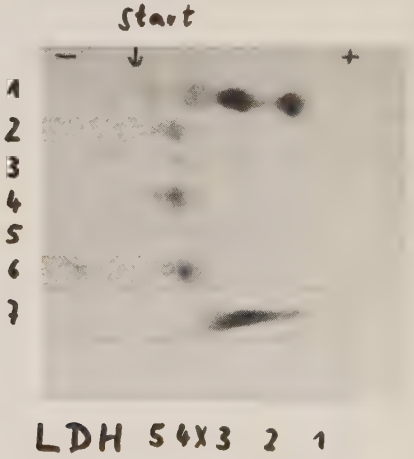
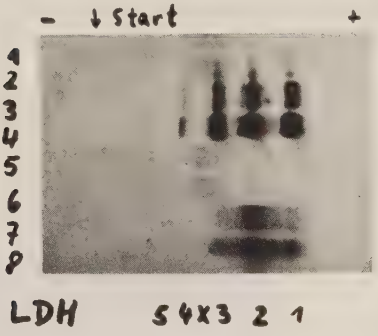


Abb. 15: LDH-Muster von Spermaspuren mit Saccharosezusatz, Darstellung auf CAF (Erläuterung im Text).

In beiden Pherogrammen sind die gleichen Spuren analysiert worden. Sie unterscheiden sich nur durch den Saccharosezusatz. In Position 1 wurde 4 Tage altes normales Venenblut aufgetragen, in den Positionen 2 bis 6 Eluate von 8 bis 10 Tagen alten Spermaspuren. In Position 8 war eine 3 Monate alte Spermaspur aufgebracht worden, die sich jedoch nicht mehr darstellte. Zu beachten ist ferner, daß die Spur in Position 5 von einem sterilisierten Probanden stammt, die daher keine LDH-X-Bande aufweisen kann.

Da sich bei der Auftrennung der LDH-Isoenzyme aus Leichenblutspuren (vgl. Abb. 10) auf Temo-Folien deutlichere Fraktionen anfärbten und auch die geringere Konzentration der Fraktion LDH-4 in normalem Venenblut (Positionen 4 und 8 in Abb. 10) noch sichtbar war, wurden auch Spermaspuren auf Temo-Folien analysiert. Auch auf diesem Trägermaterial wurde der Zusatz von Saccharoselösung untersucht.
Bei der Auftrennung auf Temo-Folien war, wie schon auf dem Cellulose-Acetat-Folien, eine Verbreiterung der einzelnen Banden und eine dadurch bedingte schlechtere Ablesbarkeit der einzelnen Isoenzyme zu beobachten (vgl. Abb. 16).



Position 1: Sperma mit Saccharose
Position 2: Mischung von Blut und Sperma
Position 3: Frischblut ohne Saccharose
Position 4: Frischblut mit Saccharose
Position 5: Sperma mit Saccharose
Position 6:
Position 7: Normalblut (15 Tage) mit Saccharose
Position 8: Normalblut (15 Tage) ohne Saccharose

Abb. 16: LDH-Muster von Sperma- und Blutspuren mit und ohne Saccharosezusatz auf Temo-Folien der Fa. Molter, mit der von der Firma angegebenen "Sandwich"-Methode gefärbt.

2.3.7. Optimale Technik

Arbeitsvorschrift für die Elektrophorese auf CAF

1. Vom Blutflecken-Stoff 2 cm^2, vom Spermaflecken-Stoff 4 cm^2 und vom mit Menstruationsblut getränkten Watteträger (Tampon) 0,33 cm^3 mit jeweils 0,5 ml Aqua bidest. eluieren;
2. CA-Folien 10 min in Veronalpuffer (0,05 M) einweichen (Puffer kann wiederholte Male zum Einweichen benutzt werden);
3. in die seitlichen Kammern des Elektrophoresegerätes je 250 ml Brückenpuffer (Herstellung des Veronalpuffers 2.1.2.) einbringen; der Puffer kann zweimal zum Auftrennen benutzt werden (Puffermenge - je 250 ml - abmessen, in Erlenmeyerkolben geben, Flüssigkeitsspiegel markieren, nach dem Lauf Puffer wieder hineingießen und bis zur Markierung mit Aqua bidest. auffüllen);
4. Folien in das Elektrophorese-Gerät einbringen, mit Eluat beimpfen;
5. 60 min bei 15 mA Stromstärke (Spannung etwa 200 V) auftrennen;
6. Die Folien 30 min in spezifischer Färbelösung (s. 2.1.2.3.) inkubieren;
7. kurz mit Wasser abspülen;
8. die Befunde beurteilen.

Arbeitsvorschrift für die Elektrophorese auf Temo-Folien

1. Herstellen der Eluate wie für CAF beschrieben;

2. Kammer- und Aktivatorpuffer (werden von der Fa. Molter geliefert) im angegebenen Verhältnis mit Aqua bidest. verdünnen;

3. Folien in das Gerät einspannen;

4. bei einer Spannung von 350 V (Stromstärke 12 bis 15 mA) 15 min auftrennen;

5. aus der Kammer nehmen, zwischen zwei Filterpapieren trocknen, mit der Cellulose-Acetat-Seite auf die mit Entwickler-Reagenz beladene Folie legen;

6. "Sandwich" 30 min lang bei 37° C inkubieren;

7. Ablesen der Befunde auf der Trägerfolie.

3. Diskussion

3.1. Vergleich der eigenen Befunde mit den Ergebnissen von ASANO, OYA und HAYAKAWA

Die von den japanischen Autoren angegebene Technik konnte in einigen Punkten vereinfacht werden. Bei der Herstellung der Eluate erwies sich eine von der japanischen Arbeitsgruppe beschriebene Maßnahme als nicht erforderlich: Es ist nicht nötig, den Extrakt aus den Blut- und Spermaspuren zu zentrifugieren, da sich die kleingeschnittenen Stoff- und Watte-Teilchen während der 12- bis 24-stündigen Lösungszeit so absetzen, daß der Überstand keine Watte- oder Stoff-Anteile mehr enthält, die sich bei der Auftrennung störend auswirken könnten.

Ferner wurde auf ein Transparent-Machen der Elektrophorese-Folien nach der Auftrennung und eine anschließende densitometrische Auswertung verzichtet, da auch mit bloßem Auge eine ausreichende Unterscheidung möglich ist. Abb. 17 verdeutlicht das.

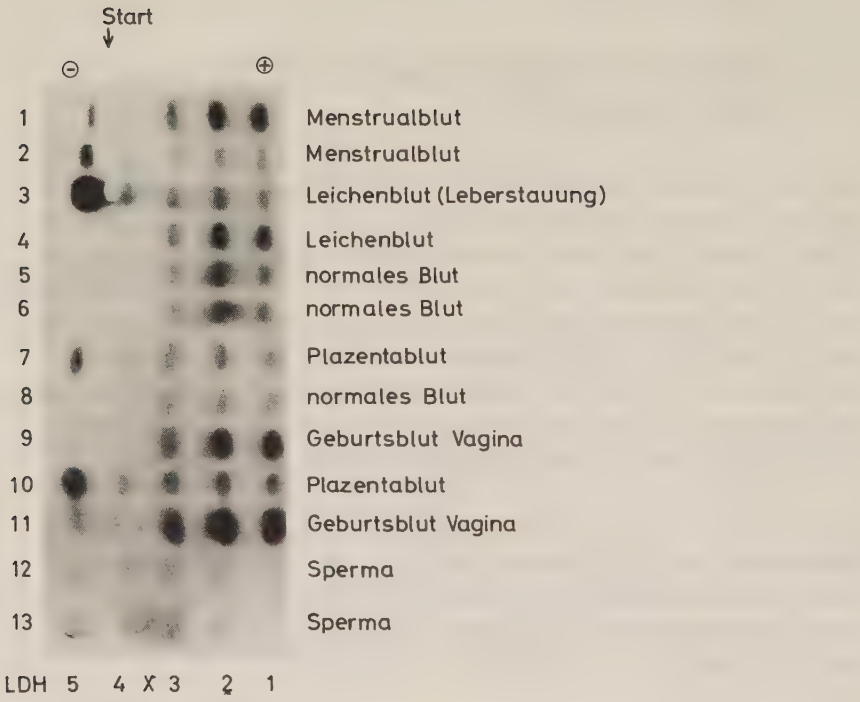


Abb. 17: LDH-Muster aus verschiedenen Spuren. Die Abbildung zeigt, daß auch ohne Densitometer eine ausreichende Unterscheidung möglich ist.

Wie die Spur 3 in Abb. 17 zeigt, kann auch in Leichenblutspuren eine sehr hohe Konzentration der LDH-5 vorliegen. So ist bei quantitativer Beurteilung der einzelnen LDH-Fraktionen zu sehen, daß die Summe aus LDH-4 und LDH-5 im Menstrualblut nicht in jedem Fall größer ist als die Summe dieser Fraktionen in Plazenta- oder Leichenblut (ASANO u. Mitarb.). Die Annahme der japanischen Arbeitsgruppe, Menstruationsblut mittels des LDH-Isoenzym-Musters im Verlauf der Spurenalterung sicher von Leichen- und Plazenta-Blut unterscheiden zu können, konnten wir mit unseren Befunden nicht bestätigen. Im übrigen ist bei ASANO u. Mitarb. nur für Menstruationsblut eine zeitliche Verlaufskontrolle beschrieben.

In den 30 untersuchten Spuren von Menstruationsblut ließ sich bereits am 13. Tag nach der Materialentnahme in 5 Spuren die LDH-4 und LDH-5 nicht mehr nachweisen, in einer der 5 Spuren war auch die LDH-3 verschwunden. In weiteren 8 Fällen fehlte LDH-4. Bei einem Spurenalter von 18 Tagen war lediglich noch 8mal das Anfangsmuster mit allen 5 Fraktionen zu sehen.
Unsere Befunde in dieser Materialgruppe decken sich nicht mit den Ergebnissen von ASANO u. Mitarb., die zu der Aussage gekommen waren, Menstruationsblut sei bis zu einem Spurenalter von zwei Wochen sicher von Leichen- und Plazentablut abgrenzbar.
Am Plazentablut konnten wir die Fraktionen LDH-4 und LDH-5 bis zu einem Spurenalter von 11 Tagen in 27 von 32 Fällen nachweisen, bei einem Spurenalter von 21 Tagen war in allen 32 analysierten Fällen die LDH-4 und LDH-5 nicht mehr zu sehen (in 3 Fällen fehlte auch die LDH-3).
Die Ergebnisse von STOMBAUGH und KEARNEY liegen nahe bei unseren Befunden. Es wurden wie in der vorliegenden Arbeit Cellulose-Acetat-Folien als Trägermaterial benutzt, und mit der gleichen Technik wurden ähnliche Nachweiszeiten beschrieben. Vor allem ist die Aussage dieser Autoren zu unterstreichen, daß die LDH-4-und LDH-5-Konzentrationen in Leichen- und Nabelschnurblut (was dem von uns untersuchten Plazentablut vergleichbar ist) denen im Menstruationsblut ähnlich seien und ein vergleichbares Alterungsverhalten zeigen.
Von den 30 auf Cellulose-Acetat-Folien untersuchten Spuren von Leichenblut war in nur 25 Fällen von Anfang an ein 5-Banden-Muster zu sehen. Nach 15-tägiger Lagerung waren nur noch 4 der 30 analysierten Spuren mit den 5 Isoenzymen ausgestattet. Da (wie oben erwähnt) bei zwei Spuren von Anfang an nur ein 3-Banden-Muster darstellbar war, wurde an 11 kurz nach dem Tod- (30 min bis 9 h p.m.) entnommenen Spuren untersucht, ob ein Zeitraum faßbar ist, in dem ein Umschlag vom "typischen" Normalblutmuster in das "typische" Leichenblutmuster stattfindet. Lediglich eine dieser Spuren (Alter 5 h 15 min p.m.) zeigte

das 5-Banden-Muster. Demnach benötigt die Ausbildung dieser Muster keine bestimmte, sondern eine unterschiedlich lange Zeit nach dem Tode.
Die Frage nach dem Umschlag des LDH-Musters nach Todeseintritt war bisher in der Literatur noch nicht behandelt worden. Sie hätte eine wichtige Lücke füllen können, weil die äußeren Umstände oder die Beschaffenheit der Verletzung in einigen Fällen die Frage unbeantwortet lassen, ob eine Verletzung vor oder nach dem Todeseintritt stattgefunden hat. So hätte es z.B. in dem in Abb. 9 dargestellten Fall von Interesse gewesen sein können, zu wissen, ob die Schußverletzung schon zu Lebzeiten vorgelegen hat (und Todesursache war) oder postmortal zur Verwischung von Spuren inszeniert worden ist. Ein analoger Anlaß kann sich ergeben, wenn ein Toter aufgefunden wird, der überfahren wurde. Wenn dann sicher festgestellt werden könnte, daß das Opfer zur Zeit des Unfalls bereits verstorben war, fiele das Strafmaß für den Unfallverursacher geringer aus, als wenn als Todesursache der Unfall ermittelt würde.

3.2. Vergleich der eigenen Untersuchungen an Spermaspuren mit den Literaturangaben

Die Nachweisbarkeit der LDH-X aus Spermaspuren wird innerhalb weitgespannter Grenzen angegeben: bei STOMBAUGH u. Mitarb. wird auf CAF eine Nachweisdauer von 15 Tagen im Blut-Sperma-Gemisch beschrieben, während SCHMECHTA und HEUSCHKEL im Durchschnitt eine Nachweisbarkeit der LDH-X von 36 Tagen angeben (in Einzelfällen wird ein Zeitraum bis zu 60 Tagen genannt). OYA u. Mitarb. wiesen mit der Stärke-Gel-Elektrophorese die LDH-X aus künstlich angelegten Spermaspuren sowie zur Sicherung von Ejakulat-Spuren aus der Scheide (Sims-Huhner-Test) über einen Zeitraum von 4 Wochen nach.
MOKASHI u. Mitarb. haben beschrieben, daß durch Zusatz von 40%iger Saccharose-Lösung die LDH-X mindestens 4 Wochen lang nachweisbar sei (s.o.). Diese Arbeitsgruppe benutzte zur Auftrennung die Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese. Vermutlich ist die Nachweisdauer von mindestens 4 Wochen nicht auf den Saccharose-Zusatz zurückzuführen, sondern auf die im Vergleich zur CAF möglicherweise höhere Empfindlichkeit des Trägermaterials Polyacrylamid-Gel . Wir haben den Effekt der Saccharose-Lösung an CAF sowie an Temo-Folien überprüft und konnten keine Verbesserung der Darstellung feststellen. Es zeigte sich lediglich eine intensivere Anfärbung der Isoenzyme, die aber mit einer Verbreiterung der Zonen einherging, so daß die Auftrennung weniger klar ablesbar war.
Wir konnten auf CAF eine Nachweisdauer der LDH-X von durchschnittlich 15 Tagen erreichen, in Einzelfällen bis zu 28 Tagen. Auf Temo-Folien war die LDH-X bis nahezu drei Monate lang nachweisbar, auch hier unabhängig vom Saccharose-Zusatz.
SKRABEI und METTLER beschrieben eine neue Methode zur Abtrennung von LDH-X-Isozym durch Detergentien und bewiesen so, daß die LDH-X auf der Oberfläche der Spermien sitzt. Diese Methode hat jedoch noch keine Relevanz für die rechtsmedizinische Praxis.

Daß die Beschaffenheit des Trägermaterials einen größeren Einfluß auf die Dauer und Qualität des LDH-X-Nachweises hat, ergibt sich aus dem Vergleich der beiden in der vorliegenden Arbeit verwendeten Folien. Verglichen mit der Empfindlichkeit der Stärke-Gel- und Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese, erlaubt die Analyse auf CAF nur eine kürzere Nachweisdauer, jedoch ist diese Methode für die meisten Fälle der täglichen Praxis hinreichend. Die Temo-Folie als Trägermaterial verbindet die Möglichkeit rationellen Arbeitens mit sehr großer Empfindlichkeit; allerdings liegen die Kosten dafür höher als bei CA-Folien.

4. Zusammenfassung

Die von ASANO u. Mitarb. beobachteten Veränderungen des Laktatdehydrogenase-Musters bei Menstruations-, Geburts- (Plazenta-) und Leichenblutproben wurden an künstlichen Blutspuren auf Spurenträgern auf ihre Eignung für rechtsmedizinische Spuren-Untersuchungen geprüft. Die Untersuchungen wurden erweitert auf den Nachweis der für Sperma spezifischen Fraktion LDH-X, die außer im Sperma nur noch im postpuberalen Hodengewebe ausgebildet ist.
Zunächst wurden optimale Bedingungen für die Technik ermittelt, die in einigen Punkten vereinfacht werden konnte. Sie wurde anschließend in einer kurzen Arbeitsanleitung beschrieben.
Insgesamt wurden Spuren aus 32 normalen Venenblutproben sowie 30 Menstruations-, 32 Plazenta-, 30 Leichenblutproben, 5 Proben aus Geburtsblut (Mischblut aus Plazenta- und normalem Venenblut) und 51 Spermaproben untersucht.

Folgende Befunde wurden erhoben:

1. Menstruations-, Leichen- und Plazentablutspuren unterscheiden sich von Spuren aus normalem Venenblut durch eine stärkere Ausprägung der Banden LDH-4 und vor allem LDH-5. Der Vergleich von Menstruations-, Plazenta- und Leichenblut ergab keine verwertbaren Differenzen in dem von ASANO u. Mitarb. postulierten Sinne, daß das LDH-Muster eine Unterscheidung solcher Blutspuren gestatte.

2. Die in der Literatur beschriebene Beeinflussung des LDH-Musters durch pathologische Prozesse betrifft Werte im Blutserum. Sie können sich bei Blutspuren-Untersuchungen nicht auswirken, da hier die 150mal höher konzentrierte Erythrozyten-LDH dominiert. Dementsprechend ergaben Spuren aus Blutproben von Hepatitis-Patienten oder von frisch operierten Personen keinen abweichenden Befund gegenüber Analysen aus Blutspuren von normalem Venenblut.

3. Die Umwandlung des normalen Venenblut-Musters in das von Leichenblut benötigt offenbar unterschiedlich viel Zeit, so daß aus dem LDH-Muster nicht auf den Zeitpunkt des Todes geschlossen werden kann oder darauf, ob eine Verletzung als Todesursache in Frage kommt oder erst nach dem Tode beigebracht wurde.

4. Das LDH-Muster nimmt mit dem Alter der Blutspuren ab (Lagerung der Spuren bei Zimmertemperatur). Da die Fraktionen LDH-4 und LDH-5 früher als die übrigen Banden abblassen und dann verschwinden, resultiert schließlich auch bei Menstruations-, Leichen- und Plazentablut ein Drei-Banden-Muster wie im normalen Venenblut. Die Daten für diese Umwandlungen sind im Text und in mehreren Tabellen angegeben.

5. Die nur in Spermatozoen ausgeprägte Bande LDH-X ist je nach verwendetem Trägermaterial zwei Wochen bis drei Monate nach Lagerung der Spuren bei Zimmertemperatur zu erfassen. Die Darstellung dieser Bande ist für Sperma ebenso beweisend wie der Nachweis von Spermien im Ausstrichpräparat.

5. LITERATURVERZEICHNIS

APELLA, E. and C. L. MARKERT: Dissociation of lactate dehydrogenase into subunits with guanidine hydrochloride. Biochem.Biophys.Res.Comm. 6, 171 (1961)

ASANO, M., OYA, M. and M. HAYAKAWA: Identification of menstrual blood stains by the electrophoretic pattern of lactate dehydrogenase isozymes. Forens.Sci. 1, 327 (1972)

BLANCO, A. and W. H. ZINKHAM: Lactate dehydrogenase in human testes. Science 139, 601 (1963)

BLANCO, A., ZINKHAM, W. H. and L. KUPCHYK: Genetic control and ontogeny of lactate dehydrogenase in pigeon testes. J.Exp.Zool. 156, 137 (1964)

BOYER, S., FAINER, D. and E. WATSON-WILLIAMS: Lactate dehydrogenase variant from blood: evidence for molecular subunits. Science 141, 642 (1963)

DAVIDSON, R., FIELDES, R., GLENN-BOTT, A., HARRIS, H. and E. ROBSON: Genetical studies on a variant of human lactate dehydrogenase (subunit A). Ann.hum.Genet. 29, 5 (1965)

EISENBURG, J.: Die klinische Bedeutung der Lactatdehydrogenase. Dtsch.med.Wschr. 94, 1882 (1969)

EISENBURG, J., KELLNER, E. und A. MUNTE: Die LDH-Isoenzyme bei Virushepatitis. Fortschr.Med. 94, 675 (1976)

GOLDBERG, E.: Lactic and malic dehydrogenase in human spermatozoa. Science 139, 602 (1963)

ISSELSTEIN, F. TH.: Lactatdehydrogenase. Ärztl.Lab. 23, 21 (1977)

KITAMURA, M., IIJIMA, N., HASHIMOTO, F. and H. HIRATSUKA: Hereditary deficiency subunit H of lactate dehydrogenase. Clin.chem.Acta 34, 419 (1971).

KOWALEWSKI, S.: Die Isoenzyme der LDH. In: Weitzel, G. und N. Zöllner (Hrsg.), Biochemie und Klinik, Monographien in zwangloser Folge. Stuttgart (Thieme) 1972

KOWALEWSKI, S.: Lactatdehydrogenase-Isoenzyme. In: Becker, P. E. (Hrsg.), Humangenetik, Bd. I/3, Protein- und Enzymvarianten, Stuttgart (Thieme) 1975

KÜSTNER, W., PRASSE, D. und J. WEINREICH: LDH-Isoenzymbestimmung bei inneren Krankheiten. München (Urban und Schwarzenberg) 1969

MARKERT, C. L. and F. MØLLER: Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic, and species specific patterns. Proc.Nat.Acad.Sc. 45, 753 (1959)

MARKERT, C. L. and H. URSPRUNG: The ontogeny of isozyme patterns of lactate dehydrogenase in the mouse. Develop. Biol. 5, 363 (1962)

MOKASHI, R. H. and M. S. MADIWALE: The use of spermspezific lactate dehydrogenase isozyme for the identification of semen in dried stains. Forens.Sci. 8, 269 (1976)

MOKASHI, R. H., MALWANKAR, A. G. and M. S. MADIWALE: Detection of semen in the presence of blood and vaginal secretion. J.Indian Acad.Forens.Sci. 14, 1 (1975)

OEPEN, I., SCHMITT, R., SCHEIDT, U. und G. MERTENS: LDH-Typenbestimmung an Blutspuren. Arch.Kriminol. 161, 105 (1978)

OYA, M., KIDO, A. and S. YADA: Lactatdehydrogenase-Isozym X (LDH-X) als Hilfsmittel für den Nachweis von Ejakulatspuren in der Scheide. Arch.Kriminol. 160, 115 (1977)

OYA, M., KIDO, A., YADA, S. and M. ASANO: Der Nachweis von Samenspuren mit Hilfe des Lactatdehydrogenase-Isozym X (LDH-X). Arch.Kriminol. 160, 35 (1977)

SCHEIDT, U.: Zur Eignung artspezifischer Unterschiede im elektrophoretischen Muster der Laktatdehydrogenase und der Malatdehydrogenase für die rechtsmedizinische Spurenuntersuchung. Diss. Marburg 1978

SCHLEYER, F. und I. OEPEN: Leitfaden der gerichtlich-medizinischen Blutspurenuntersuchung. Lübeck (Schmidt-Römhild) 1977

SCHMECHTA, H. und H.-J. HEUSCHKEL: Forensischer Wert der Isoenzyme der Laktatdehydrogenase bei der Untersuchung von Spermaspuren. Kriminalistik u. Forens. Wiss. 26, 166 (1976)

SKABEI, H. and L. METTLER: Lactate-dehydrogenase separation of human spermatozoa isoenzymes by extraction with detergents. Res.exp.Med. 171, 279 (1977)

STOMBAUGH, P. M. and J. J. KEARNEY: Factors affecting the use of lactate dehydrogenase as a means of bloodstain differentiation. J.Forens.Sci. 23, 94 (1978)

WROBLEWSKI, F. and K. F. GREGORY: Lactic dehydrogenase isoenzym and their distribution in normal plasma and in disease states. Ann.N.Y.Acad.Sci. 94, 912 (1961)

ZINKHAM, W. H., BLANCO, A. and L. J. CLOWRY: An anusual isozyme of lactate dehydrogenase in mature testes: localization, ontogeny, and kinetic properties. Ann.N.Y.Acad.Sci. 121, 571 (1964)

Bei Frau Prof. Dr. med. I. Oepen möchte ich mich sehr herzlich bedanken für die Überlassung des Themas, für die gute Betreuung während des praktischen Teiles der Dissertation sowie für die Hinweise bei der Abfassung des Textes.

Fräulein Gabriele Mertens danke ich herzlich für ihre wertvollen technischen Hinweise sowie für die Anfertigung der Lichtbilder.

Herrn Prof. Dr. med. H. Eißner und Herrn Akadem. Oberrat Dr. med. U. Schulze danke ich an dieser Stelle herzlich für die Hilfe bei der Beschaffung der Spermaproben aus der Marburger Universitäts-Hautklinik.

Den Firmen Biotest und Molter danke ich für die freundliche Überlassung einiger Arbeitsmaterialien.

Lebenslauf

Am 6. September 1949 wurde ich als erstes von zwei Kindern des Landwirts Ernst Schmitt und seiner Ehefrau Olga, geb. Büchs in Königshofen/Grabf. geboren.
Ich wuchs in Gabolshausen bei Königshofen auf, wo meine Eltern einen Bauernhof bewirtschaften.
1955 wurde ich in die Volksschule Gabolshausen aufgenommen und im Juli 1963 entlassen. Ich arbeitete auf dem elterlichen Anwesen mit und legte 1967 die Gehilfinnenprüfung der Ländlichen Hauswirtschaft ab. 1968 unterzog ich mich an der Berufsaufbauschule Bad Neustadt/Saale der Prüfung der Mittleren Reife, und von 1969 an besuchte ich das Bayernkolleg Schweinfurt, das ich im Juni 1971 mit dem Zeugnis der Allgemeinen Hochschulreife verließ.
Im Wintersemester 1971/72 begann ich an der Julius-Maximilians-Universität in Würzburg das Studium der Medizin, legte nach dem Sommersemester 1972 das Vorphysikum ab und nach dem Sommersemester 1974 das Physikum. Nach dem Wintersemester 1975/76 bestand ich den Ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung und setzte im Sommersemester 1976 mein Studium an der Philipps-Universität in Marburg fort. Im Sommer 1977 legte ich den Zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung ab. Von Oktober 1977 bis September 1978 leistete ich das Praktische Jahr an den Städtischen Kliniken Fulda ab.
Im Oktober 1978 bestand ich den Dritten Teil der Ärztlichen Prüfung. Ab 1. Januar 1979 arbeite ich an der Frauenklinik der Städt. Kliniken Fulda als Assistenzärztin.

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren Professoren und Dozenten:

in Würzburg: Altmann, Bauereisen, Börner, Franke, Frohmüller, Heine, Helmreich, Kern, Kley, Krauße, Kühn, Kühnen, Lang, Lanz, Leydhecker, Linnert, Polzien, Quast, Romen, Schäfer, Schiebler, Schmidbaur, Schott, Seeliger, Sefrin, Simonis, Westphal, Wüstenfeld.

in Marburg: Baltzer, Buchholz, Daume, Dittrich, Dombrowski, Eschenbach, Exner, Frank, Friederich, Grundner, Hamelmann, Hardewig, Havemann, Heene, Hildebrandt, Hilgermann, Hort, Huch, Kaffarnik, Kalbfleisch, Kipp, Klaus, Klein, Koransky, Latta, Lauer, Lütcke, Maroske, Martini, Neurath, Nitschke, Oepen,I., Pots, Richter, Schmitz-Moormann, Siegrist, Sodomann, Stutte, Weber, Willenbockel.

in Fulda: Allner, Bäßler, Göltner, Haas, Hammar, Nieth, Reitter.